

УДК 595.775 и 576.851.136

О ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЛИСТЕРИОЗА (*LISTERIA MONOCYTOGENES*) И КРОВОСОСУЩИХ БЛОХ

А. Н. Алексеев, Р. В. Гребенюк, П. А. Чиров и А. М. Кадышева

Всесоюзный научно-исследовательский институт дезинфекции
и стерилизации Минздрава СССР, Москва и Институт биологии
АН Киргизской ССР, Фрунзе

Методом индивидуального дозированного кормления разными количествами листерий были заражены блохи *Leptopsylla segnis*, *Ceratophyllus consimilis* и *C. laevicervis*. Они сохраняют возбудителей до 15 суток (срок наблюдения), выделяют их с фекалиями и могут передавать через укус белым мышам. Для *L. segnis* показано наличие оптимальных заражающих доз листерий, что свидетельствует о специфичности их взаимоотношений и о возможной роли этого вида в переносе листерий в природе. То же относится и к *C. consimilis*.

Листериоз — антропозоонозное заболевание (Сахаров, Гудкова, 1954; Триполитова, Борисова, 1965; Бакулов, 1967). Возбудителя листериозной инфекции часто выделяют не только из грызунов, но и из их эктопаразитов, в том числе блох (Михайлова, Якунина, 1962; Юркина, 1963). По данным Рассказовой и Прокопьева (1962) и Огневой (1964), блохи могут передавать возбудителя этого заболевания через укус. Учитывая, что эктопаразиты грызунов (клещи) могут хранить и передавать инфекцию, вызывающую течение эпизоотий среди грызунов, Олсуфьев (1955) высказался в пользу природноочагового характера этой инфекции.

Настоящее исследование, проведенное в Лаборатории паразитологии Института биологии АН КиргССР, имело целью выяснить возможную роль различных видов блох в циркуляции возбудителя листериоза в природе. Анализу были подвергнуты заражаемость блох, сохранение и размножение *L. monocytogenes* в них, выделение листерий во внешнюю среду. В качестве основного критерия специфичности взаимоотношений был избран предложенный ранее (Алексеев, 1968) критерий наличия оптимальной заражающей дозы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В опытах использовали блох полевок — *Ceratophyllus consimilis* Wagn., песчанок — *C. laevicervis* Wagn. и мышей — *Leptopsylla segnis* Schöönch.¹ Опыты проводили в июле 1969 г. Температура помещения, в котором содержали и заражали блох, колебалась от 24 до 28°. Перед заражением блох выдерживали голодными в течение 2—4 суток. Каждую особь заражали индивидуально через капилляр строго определенной дозой взвеси листерий по разработанной нами методике (Алексеев, 1965; Алексеев, Бибикова, Хрущевская, 1967). Суспензию готовили из смыва 1—2-суточной культуры листерий на косом агаре (культура выделена А. М. Кадышевой из мозга лесной мыши, 1967 г.). Количество микробов

¹ Авторы выражают свою благодарность В. А. Бибиковой, любезно предоставившей культуру указанных видов блох.

вычисляли по бактерийному стандарту и затем доводили до нужной концентрации путем последовательных разведений физиологическим раствором. Последнее разведение смешивали с равным количеством гемолизированной крови морской свинки. Число микробных тел во взвеси проверяли методом последовательных разведений и посева на агар до начала кормления блох и повторно по окончании работы. Насекомые получали в разных опытах от десятков до сотен тысяч микробных тел. Зараженных блох содержали в тех же условиях, что и незараженных (при 85—90% относительной влажности).

Зараженных блох один раз в 2 дня подкармливали (индивидуально под пробиркой) на брюшке здоровых белых мышей.

Через различные промежутки времени (0,3, 24, 48 час. и 5—15 суток) блох замаривали хлороформом, промывали один раз в 96° спирте и 2 раза в дистиллированной воде и растирали в ступке в 1.0 мл физраствора. Затем по 0.1 мл сеяли в возрастающих разведениях на кровяной агар (разведением 1 : 10 считалась суспензия, приготовленная из растертым блохам в 1.0 мл физраствора). В опытах, имевших целью определить содержание листерий в фекалиях блох, кровососов кормили взвесью листерий (10^9 микробных тел в 1 мл) через биомембрану, затем отсаживали в колбу на стерильный песок.

Блох периодически подкармливали на здоровых мышах, а фекалии собирали на стерильный песок. Песок и блох (по 10 экз.) исследовали на наличие и длительность сохранения листерий. Пробы песка из разных колб брали с недельными интервалами. У блох, зараженных на мембране и содержащихся в последующем на здоровых мышах, были также исследованы яйцекладки и выплодившиеся личинки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Методом индивидуального кормления было заражено разными дозами микробов 440 особей трех видов блох. Данные о заражаемости и сохранении *L. monocytogenes* в блохах представлены в таблице. Из таблицы следует, что видовые отличия в заражаемости и сохранении микробов у изученных видов практически отсутствуют. Минимальные дозы, использованные для успешного заражения блох, — десятки, сотни микробных тел.

Заражаемость блох разных видов листериями и сохранение возбудителя в их организме

Вид блох	Количество зараженных блох через разные интервалы					
	от 0 до 3 час.		от 24 до 48 час.		от 5 до 15 суток	
	число блох в опытах	число зараженных особей (в %)	число блох в опытах	число зараженных особей (в %)	число блох в опытах	число зараженных особей (в %)
<i>Leptopsylla segnis</i> . . .	54	87 +4.5	45	82.2 +5.7	12	41.6 +14.2
<i>Ceratophyllus consimilis</i> . .	40	95.0 +3.3	31	90.5 +5.3	15	46.5 +12.8
<i>Ceratophyllus laeviceps</i> . . .	117	89.7 +2.8	81	78.0 +4.6	45	34.6 +7.1

У *Ceratophyllus laeviceps* к 5—15-му дню после заражения наблюдается очевидное и статистически достоверное снижение числа остающихся инфицированными особей ($td = 5.1$, в ≥ 0.999). То же и у *C. consimilis* ($td = 3.2$). Видимо, наиболее стойко и длительно сохраняются листерии в организме *L. segnis*: достоверность уменьшения числа зараженных блох со 2-го на 15-й день несколько ниже, чем у *Ceratophyllus* ($td = 2.7$). Анализ данных, приведенных на рис. 1, не противоречит этому: на протяжении 2—5 суток титр листерий в *L. segnis* сохраняется на равномерно высоком уровне. Даже при минимальных заражающих дозах (десятки микробных тел) количество листерий в этом виде достигает наиболее высоких цифр через

48 час. и в отличие от *Ceratophyllus* сохраняется на этом уровне на всем протяжении наблюдений (рис. 1, I, II). При средних заражающих дозах (тысячи микробных тел) в *L. segnis* через 3—24 часа обнаруживали миллионы жизнеспособных микробных клеток. Средний уровень содержания листерий при сходных условиях заражения также оказался несколько выше у *L. segnis* по сравнению с *C. consimilis* и *C. laeviceps*. Однако резких видовых отличий в сохранении и размножении листерий в организме изученных видов по этим показателям отметить не удалось.

У всех трех видов зарегистрировано выделение с фекалиями жизнеспособных листерий. У *C. laeviceps*, зараженных кормлением через биомем-

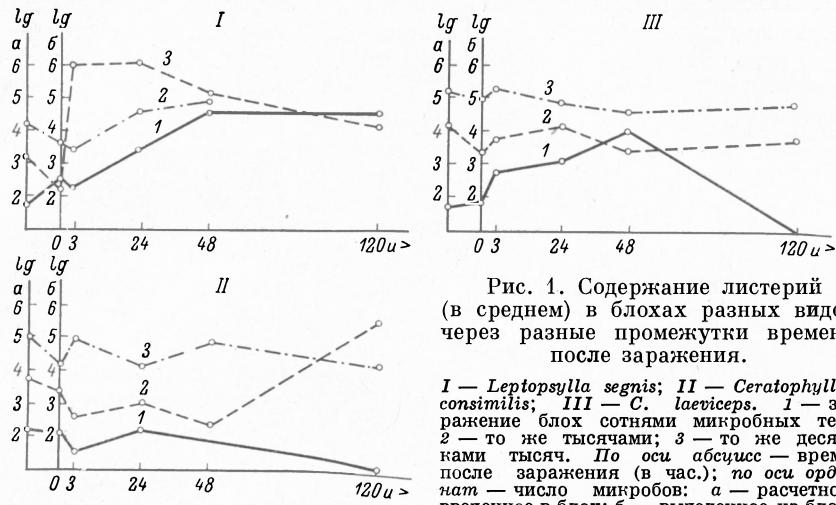


Рис. 1. Содержание листерий (в среднем) в блохах разных видов через разные промежутки времени после заражения.

I — *Leptopsylla segnis*; II — *Ceratophyllus consimilis*; III — *C. laeviceps*. 1 — заражение блоками сотнями микробных тел; 2 — то же тысячами; 3 — то же десятками тысяч. По оси абсцисс — время после заражения (в час.); по оси ординат — число микробов: а — расчетное, введенное в блок; б — выделенное из блок.

брану миллиардной культурой листерий и в последующем подкармливаемых на здоровых мышах, листерии выделялись с фекалиями на протяжении недели (срок наблюдений).

Через 8 дней после инфицирующего кормления зараженными оставались 20% блох, через 17 дней — 10%. На 5-й день после заражения титрование смыва из 1 см³ песка, на который было посажено 200 блох, дало десятки тысяч жизнеспособных листерий. Возбудитель в фекалиях сохранял жизнеспособность в сухом песке в течение 14—17 суток после выделения их блохами, зараженными за 1, 3, 5 суток до этого. Число живых клеток исчислялось тысячами в смывах из 1 см³ песка. Через 20—24 дня листерий в фекалиях обнаружить не удалось.

Как и следовало ожидать, трансовариальной передачи листерий обнаружено не было. Исследование яиц заведомо зараженных блох² (7 проб по 50 яиц) и выплодившихся из них личинок (3 пробы с общим количеством 200 личинок) дало отрицательные результаты. Лишь в первой пробе из 50 яиц, отложенных сразу после заражения, при посеве на МПБ обнаружены единичные листерии, что, очевидно, связано с попаданием на их поверхность листерий из фекалий.

ОБСУЖДЕНИЕ

Следовательно, налицо все признаки, характеризующие блох как возможных переносчиков листериоза: они легко заражаются листериями, микробы сохраняются и размножаются в их организме и выделяются с фекалиями во внешнюю среду, передаются через укус (наши данные и данные Огневой, 1964), блохи встречаются спонтанно зараженными в природных условиях (Михайлова, Якунина, 1962; Юркина, 1963).

² Всего в этих опытах было заражено 600 блох, протитрованы индивидуально 3 пробы по 10 блох. Зараженность 50—60%. Из блох выделялись сотни тысяч жизнеспособных листерий.

Естественно, возникает вопрос о специфичности взаимоотношений листерий и блох разных видов, о степени взаимной адаптированности этого возбудителя и представителей *Siphonaptera*.

Мы не имеем пока данных о выживаемости и плодовитости зараженных особей, поэтому не можем судить, являются ли листерии комменсалами или паразитами в организме блох. Однако мы располагаем данными об уровне размножения листерий в кишечнике блох в зависимости от исходной заражающей дозы. Воспользовавшись гипотезой, выдвинутой А. Н. Алексеевым (1968), о наличии заражающих доз особо благоприятных для заражения переносчика, отношения которого с данным видом возбудителя носят специфический характер, мы попытались проанализировать полученные данные об уровне заражения *L. segnis*, *C. consimilis*, *C. laeviceps* разными количествами листерий. Результаты представлены на рис. 2.

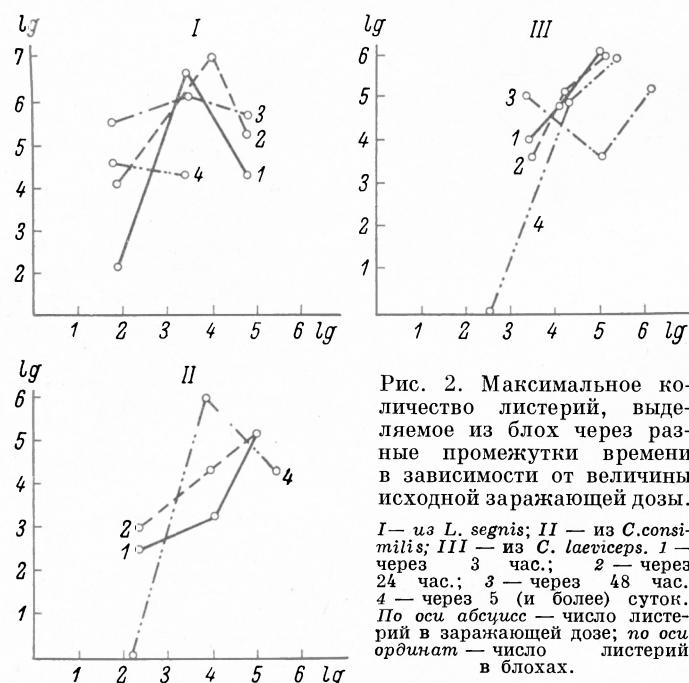


Рис. 2. Максимальное количество листерий, выделяемое из блох через разные промежутки времени в зависимости от величины исходной заражающей дозы.
 I — из *L. segnis*; II — из *C. consimilis*; III — из *C. laeviceps*. 1 — через 3 час.; 2 — через 24 час.; 3 — через 48 час.; 4 — через 5 (и более) суток.
 По оси абсцисс — число листерий в заражающей дозе; по оси ординат — число листерий в блохах.

Точки, по которым проведены кривые, отражают максимальные количества жизнеспособных возбудителей, обнаруживаемые в блохах, зараженных исходно разными дозами возбудителей.

Как видно из рис. 2, кривые, обозначающие число листерий в *L. segnis* через 3, 24 и 48 час. после заражения, имеют отчетливые максимумы. Количество листерий в *L. segnis* при массивном, превышающем оптимум, заражении уменьшается (см. также рис. 1) и насчитывает десятки тысяч независимо от исходной заражающей дозы листерий для *L. segnis*, средней из числа использованных и лежащей в пределах 10^3 — 10^4 микробных тел на 1 особь.

Почти противоположная картина у *C. laeviceps*. У них не наблюдается не только максимума, но даже происходит падение числа микробных клеток у исследованных через 48 час. блох, зараженных исходной дозой, равной 10^4 микробных тел (рис. 2, III, 3). *C. consimilis* занимают промежуточное положение: максимум мы наблюдали лишь в одном случае из трех и то лишь после длительного пребывания листерий в организме этого вида.

Исследование 7 субкультур листерий, выделенных после 10-дневного пребывания в организме блох, показало, что биохимические свойства использованного штамма почти не изменились. На 2-е сутки листерии разлагали глюкозу, мальтозу, галактозу, рамнозу, декстрозу, глицерин и левулезу

с образованием кислоты без газа, что соответствует исходным свойствам штамма; на 6-е сутки отмечено слабое образование кислоты в ксилозе.

В опыте по изучению вирулентности штамма, пропущенного через организм разных видов блох, было заражено 80 белых мышей по 4 животных каждой дозой. DL_{50} двух субкультур, выделенных из *C. consimilis* (№ 187, 338), одной из *C. laeviceps* (№ 172) и одной из *L. segnis* (№ 449), была равной 1000 микробным клеткам. Лишь одна субкультура (№ 394), выделенная на 10-й день после заражения *L. segnis*, несколько снизила свою вирулентность. 50% гибели мышей получено лишь при введении им 100 тыс. и 1 млн микробных клеток.

Если принять справедливость выдвинутого нами критерия наличия оптимальных заражающих доз, то можно считать, что взаимоотношения между возбудителем листериоза и блохами мышей *L. segnis* носят специфический характер взаимно-адаптированной пары. Следовательно, *L. segnis* может быть переносчиком этой инфекции в популяции мышей в природных условиях. Напомним, что использованный нами штамм № 77 *L. monocytogenes* был выделен именно из лесной мыши.

Участие полевок в эпизоотиях листериоза также известно (Огнева, 1964) и потому не удивительна возможность, хотя и меньшая, адаптированность возбудителя листериоза к блохам полевок *C. consimilis*, которые, кроме того, могут паразитировать и на лесных мышах (Иофф и Бондарь, 1956). Напротив, случаев выделения *L. monocytogenes* из песчанок или из их блох нам неизвестны. Интересно отметить, что подобно тому, как это происходит с *Pasteurella pestis* в блохах (Алексеев, Бибикова и Хрущевская, 1969), в организме *L. segnis* и *C. consimilis* в двух случаях из 3 исследованных заражающих доз в течение первых 3 час. наблюдалось снижение числа возбудителя в кишечнике блох (рис. 1, I, II). У зараженных *C. laeviceps*, подобно тому как это происходит в пробирке, наблюдался рост числа листерий в первые же часы после заражения (рис. 1, III). Эти факты также свидетельствуют, по нашему мнению, о специфичности взаимоотношений *L. monocytogenes* и блох мышевидных грызунов.

Полученные нами данные говорят о возможной роли блох мышевидных грызунов в циркуляции возбудителя листериоза в природе и в поддержании природных очагов этой инфекции.

ВЫВОДЫ

1. Блохи мышевидных грызунов — *Leptopsylla segnis*, *Ceratophyllus consimilis* и песчанок — *C. laeviceps* легко заражаются в эксперименте возбудителем листериоза *Listeria monocytogenes*, длительно сохраняют его, выделяют с фекалиями во внешнюю среду и передают здоровым мышам через укус.

2. Видовых отличий в заражаемости и длительности сохранения листерий у 3 изученных видов блох обычными методами отметить не удалось.

3. Наличие оптимальных заражающих доз, особо благоприятных для размножения листерий в организме *L. segnis* и в меньшей степени в *C. consimilis*, говорит о специфичности взаимоотношений блох указанных двух видов с возбудителем листериоза. Роль *L. segnis* и *C. consimilis* как переносчиков *L. monocytogenes* среди грызунов вполне возможна. Напротив, отсутствие оптимума для заражения блох песчанок *C. laeviceps* говорит о меньшей вероятности участия этого вида блох в переносе *L. monocytogenes*.

Л и т е р а т у р а

Алексеев А. Н. 1965. Принудительное дозированное кормление насекомых. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 4: 467—471.
Алексеев А. Н. 1968. Susceptibility of vectors to the mean doses of pathogenic agents as a criterium of their mutual adaptations. Abstr. of Papers XIII Intern. Congr. of Entomology, M. : 7.

А л е к с е е в А. Н., Б и б и к о в а В. А. и Х р у с ц е л е в с к а я Н. М. 1967. Методика индивидуального принудительного дозированного заражения блох микробами чумы. Паразитол., 1 (2): 176—179.

А л е к с е е в А. Н., Б и б и к о в а В. А. и Х р у с ц е л е в с к а я Н. М. 1969. Некоторые доказательства существования бактерицидного фактора в организме кровососов на примере блох — переносчиков чумы. Паразитол., 3(3): 228—235.

Б а к у л о в И. А. 1967. Листериоз сельскохозяйственных животных. М. : 3—295.

И о ф ф И. Г. и Б о н д а р ь Е. П. 1956. Блохи Туркмении, Тр. н.-иссл. противочумн. инст. Кавказа и Закавказья, Ставрополь, 1: 60—61.

К а д ы ш е в а А. М. и П о л о в и н к и н а Л. В. 1967. Листериоз грызунов. Сельское хозяйство Киргизии, 12: 1—38.

М и х а й л о в а О. А. и Я к у н и н а Т. И. 1962. Обнаружение возбудителя листериоза у грызунов г. Владивостока. Докл. Иркутск. противочумн. инст., 4 : 210—122.

О г н е в а Н. С. 1964. Об эпизоотологии листериоза грызунов. Зоол. журн., 43 (9) : 1373—1381.

О л с у ф ь е в Н. Г. 1955. О возможной роли кровососущих членистоногих в передаче листериоза и элизипелоида. Восьмое совещ. по паразитол. пробл., Тез. докл. : 109.

Р а с с к а з о в а А. К. и П р о к о п'е в В. Н. 1962. Изучение возможности хранения и передачи блохами листериозной инфекции. Докл. Иркутск. противочумн. инст., 4 : 212—217.

С а х а р о в П. П. и Г у д к о в а Е. И. 1954. Листереллезная инфекция. Медгиз, М. : 1—182.

Т р и п о л и т о в а А. А. и Б о р и с о в а Г. В. 1965. Листериоз. Томск : 1—257.

Ю р к и н а В. И. 1963. Блохи емуранчика (*Scriptoroda telum*) на випадок іх спонтанної зараженности збудником лістериозу. Доповіді Академії наук Української ССР, 7 : 970—972.

ON THE RELATIONSHIPS BETWEEN LISTERIA MONOCYTOGENES
AND BLOODSUCKING FLEAS

D. N. Alekseev, R. V. Grebenjuk, P. A. Chirov and A. M. Kadyshева

S U M M A R Y

Fleas *Leptopsylla segnis*, *Ceratophyllus consimilis* and *C. laeviceps* were infected with various numbers of Listeria by the method of individual dose feeding through capillary. All three species infected with Listeria, preserve them up to 15 days, excrete them with faeces and transmit them to white mice through biting.

The author gives optimal (10^3 — 10^4 microbial bodies per individual on the average) infecting doses with Listeria for *L. segnis* that suggests the specificity of relationships between this species and Listeria and a possible role of this species in the transmission of Listeria from rodent to rodent in nature. According to this character, fleas of voles, *C. consimilis*, can also take part in the circulation of the agent. Interrelations between Listeria and *C. laeviceps*, fleas of gerbils, are not, apparently, of specific nature.